

補助事業番号 2017M-113

補助事業名 平成29年度 ゲノム医療や育種に向けた沿面放電型分子・遺伝子導入装置の
開発補助事業

補助事業者名 愛媛大学工学部電気電子工学科電気エネルギー変換工学研究室

1 研究の概要

“ 近年進歩が著しく、医療や農水産物の育種などの飛躍的な発展をもたらすと期待されているゲノム編集技術であるが、編集システムを安全に細胞に導入する技術が確立されていないため、ゲノム編集を実際の医療や農水産物の育種に簡便に用いることができていないという問題がある。

申請者は、共同研究者が2002年に考案した、放電プラズマを照射することで細胞に遺伝子を導入する「プラズマ遺伝子導入法」の改良実用化の研究に従事しており、これまでに、直径70 μ mの極細電極と板状の対向電極の間に細胞の入ったウェルを配置することで放電プラズマの時間的空間的揺動を押さえ、高効率と低ダメージを両立した遺伝子導入法～マイクロプラズマ法～を実現した。この、高効率と低ダメージの両立は世界で他の追随を許さない卓越した技術である。

このマイクロプラズマ遺伝子導入法をゲノム編集に用いる事ができれば、医療や農水産物の育種にゲノム編集技術を適用するためのハードルの1つがクリアされる。しかし、医療や農水産物の育種の場合、極細電極と対向電極で生体の表皮(表面)を挟んで放電を発生させることができない。そこで、本研究では沿面放電を用いた新しい機械装置を開発してこの問題の解決にチャレンジすることを提案する。

これまでのマイクロプラズマ法に関する回路シミュレーションと遺伝子導入の実験結果から、細胞と遺伝子の懸濁液を流れる電流の密度が遺伝子導入率を決定するキーパラメータであることが判明しているので、沿面放電法の開発の方針としては、

- ・沿面放電法に関するシミュレーションモデルを構築し、3.5cmのシャーレ上で沿面放電による遺伝子導入実験を行いモデルを修正する

- ・装置を試作して、シミュレーションモデルと実験から均一かつ高効率の遺伝子導入が得られるように電極対の数や配置を最適化する

というプロセスで研究開発を進める。

本研究終了後は試作装置を医学や農水産分野の研究者に提供し、性能評価を受け装置を改良して実用を目指す。最終的には、本装置によりゲノム編集技術の実用化に貢献し、医療や食糧問題の解決に貢献することにチャレンジしたい。”

2 研究の目的と背景

遺伝子医療や食糧問題の解決法としてのゲノム編集実用化のために、生体表面に対して安全かつ高効率に遺伝子を導入できる技術の開発が望まれている。研究用の遺伝子導入技術は既に存在するが、農業や医療に用いる実用レベルでの安全性は確立されていない。例えば、ウイルスや病原体を感染させることで遺伝子を導入する方法があるが、病気を引き起こす可能性が否定で

きず、また物理的・化学的方法では細胞に障害を与えるなどなどの問題がある。そこで、本事業で沿面放電を用いた新しい機械装置を開発して、ゲノム編集に使える安全かつ高効率な遺伝子導入の実現にチャレンジする。

これまで我々のグループはマイクロプラズマを用いた全く新しい遺伝子導入法を見だし開発してきている。その過程で、遺伝子が細胞に導入されるメカニズムを解明し、遺伝子の導入には電気的な要因と化学的な要因の両方が必要であること、電流密度が導入効率のキーパラメータであることを見いだした。これらの知見を基にして、細胞や組織に障害を与えることなく高効率に遺伝子が導入されることが期待できる条件やアルゴリズムを導き出し、より広範囲に遺伝子を導入できる仕組みとして「沿面放電」を用いた遺伝子の導入方法の装置化にチャレンジする。

3 研究内容

(1) 沿面放電法のシミュレーションモデルの構築と3.5 cmシャーレでの実験によるモデルの修正
(URL <http://www.mayu.ee.ehime-u.ac.jp/JKA2017> 特許出願後に公開の予定)

針電極を使用した時のシャーレ表面の電界及び電流密度分布の計算をシミュレーションモデル・COMSOLにて作成した。両者のシミュレーションと導入範囲を比較したところ、電界・電流密度分布と導入範囲が相似する部分が観察された(図1)。本結果を基に、シミュレーションにより針の本数や配置の最適化を目指した検討を実施した。3.5cmのシャーレでの実験の結果から、針電極の本数は4本が最適であることがわかった。

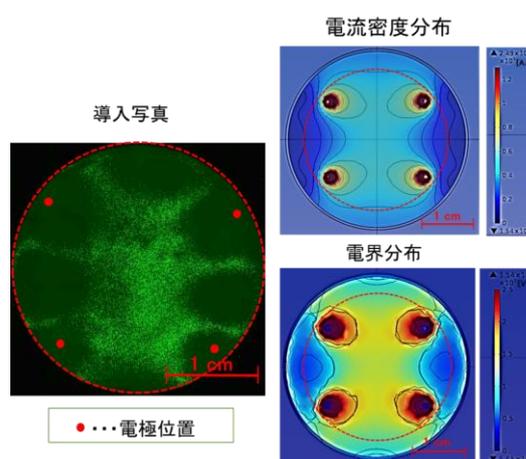


図1 電流密度及び電界分布のシミュレーション結果と遺伝子導入範囲

(2) 沿面放電型遺伝子導入装置の試作と装置諸条件の最適化

(URL <http://mayu.ee.ehime-u.ac.jp/JKA2017> 特許出願後に公開の予定)

最適な導入条件を探索するために電極配置が移動できるように図のような装置を試作した。放電針の配置を種々検討したところ、シャーレの壁から離れた配置の時に導入範囲がシミュレーションと相似する結果が得られた。更に、電極高さを最適化し、安定性した結果を得られる様になり電極配置が最適化できた。

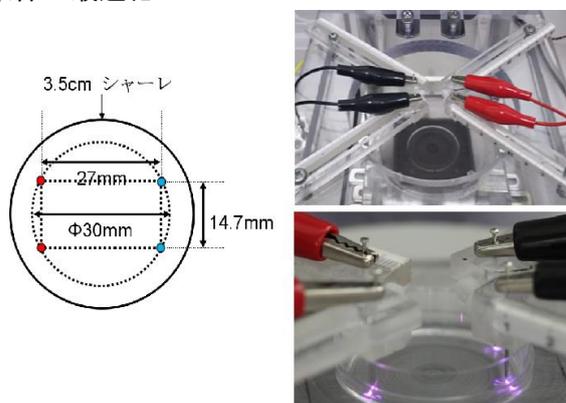


図2 試作装置の電極配置図および画像

4 本研究が実社会にどう活かされるかー展望

農学および医学系での研究への応用を検討するための共同研究を開始しており、今後、農水産物の育種や、遺伝子医療、再生医療そしてゲノム医療への応用が期待できる。

5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

従来のマイクロプラズマ遺伝子導入方は高効率で低侵襲であったが、処理できる面積(=細胞数)が小さいため、大量処理には適さなかった。しかし、本研究で技術基盤が構築できた沿面放電手法は、大面積の処理を可能にするもので、新たな研究の展開をもたらすものと期待している。

6 本研究にかかわる知財・発表論文等

沿面放電を用いた遺伝子導入の応用方法についての知見を知財化する予定で準備している。知財化が済み次第、成果を国内外の学会で発表するとともに、2019年3月までに論文にまとめ投稿する予定である。

7 補助事業に係る成果物

(1)補助事業により作成したもの

・補助事業実施内容および成果に関する報告書

本補助事業の成果公開WEBページにて公開

(URL <http://www.mayu.ee.ehime-u.ac.jp/JKA2017>)

(特許出願後に公開の予定)

(2)(1)以外で当事業において作成したもの

・なし

8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名： 愛媛大学工学部

(エヒメダイガク コウガクブ)

住 所： 〒790-8577

愛媛県松山市文京町3

担 当 者： 教授 神野 雅文 (ジンノ マサフミ)

担 当 部 署： 電気電子工学科電気エネルギー変換工学研究室

(デンキデンシコウガッカ デンキエネルギーヘンカンコウガクケンキュウシツ)

E - m a i l : mjin@mayu.ee.ehime-u.ac.jp

U R L : <http://www.mayu.ee.ehime-u.ac.jp>

